



Attorney Docket: 147/50827
PATENT

#5
7/20/02

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: ZSUZSANNA ROZSA ET AL
Serial No.: 10/043,268
Filed: JANUARY 14, 2002
Title: MEDICAMENT WITH PROTECTIVE EFFECT AGAINST
OXIDATIVE-TOXIC SUBSTANCES, PARTICULARLY
AGAINST CARDIOTOXIC SUBSTANCES

CLAIM FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. §119

Box Missing Parts
Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231


Sir:

The benefit of the filing date of prior foreign application No. 199 32 555.3, filed in Germany on July 13, 1999, is hereby requested and the right of priority under 35 U.S.C. §119 is hereby claimed.

In support of this claim, filed herewith is a certified copy of the original foreign application.

Respectfully submitted,

June 13, 2002



J. D. Evans
Registration No. 26,269

CROWELL & MORING, LLP
P.O. Box 14300
Washington, DC 20044-4300
Telephone No.: (202) 624-2500
Facsimile No.: (202) 628-8844

JDE/ajf

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 199 32 555.3

Anmeldetag: 13. Juli 1999

Anmelder/Inhaber: Solvay Pharmaceuticals GmbH, Hannover/DE

Bezeichnung: Arzneimittel mit protektiver Wirkung gegen
oxidativ-toxische und insbesondere gegen
kardiotoxische Substanzen

IPC: A 61 K 31/55

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 3. Juli 2000
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

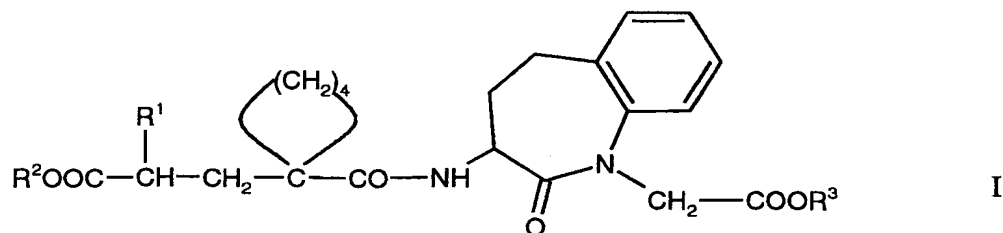
Nietiedt

Zusammenfassung

Beschrieben wird die Verwendung von Benzazepin-N-essigsäurederivaten, welche in α -Stellung zu dem Stickstoffatom eine Oxogruppe enthalten und in 3-Stellung durch einen 1-(Carboxyalkyl)-cyclopentyl-carbonyl-amino-Rest substituiert sind, und von deren Salzen und biolabilen Estern zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Schädigungen des Herzens welche durch kardiotoxische Dosen von Arzneimitteln oder Chemikalien verursacht werden, in größeren Säugetieren und insbesondere Menschen. Insbesondere betrifft die Erfindung die Prophylaxe und/oder Behandlung von Schädigungen des Herzens, insbesondere des Myokards, welche im Rahmen einer zytostatischen Chemotherapie auftreten können. Weiterhin wird die Verwendung der genannten Benzazepin-N-essigsäurederivate zur adjuvanten Behandlung im Rahmen von Therapien beschrieben, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-toxischen Nebenwirkungen eingesetzt werden. Die Herstellung von für diese Prophylaxe und/oder Behandlung bzw. adjuvante Behandlung geeigneten Arzneimitteln wird ebenfalls beschrieben.

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I



worin

- R¹ für eine Phenylniederalkylgruppe, welche gegebenenfalls im Phenylring durch niederes Alkyl, niederes Alkoxy oder Halogen substituiert sein kann, oder für eine Naphthylniederalkylgruppe steht,
- R² Wasserstoff oder eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe bedeutet und
- R³ Wasserstoff oder eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe bedeutet,

und physiologisch verträglichen Salzen der Säuren der Formel I zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch kardiotoxische Dosen von Arzneimitteln, insbesondere von Zytostatika, vorzugsweise von zytostatisch wirksamen Antibiotika, oder Chemikalien induzierten Schädigungen des Herzens, insbesondere des Myokards, in größeren Säugetieren und Menschen.

2. Verwendung von Verbindungen der in Anspruch 1 angegebenen allgemeinen Formel I und von physiologisch verträglichen Salzen der Säuren der Formel I zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur adjuvanten Behand-

lung bei größeren Säugetieren und Menschen in Therapien, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-zytotoxischen, insbesondere oxidativ-kardiotoxischen, Nebenwirkungen eingesetzt werden.

3. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 oder 2, worin R^2 und/oder R^3 eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe bedeuten.

4. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I nach einem der vorstehenden Ansprüche, worin die einen biolabilen Ester bildende Gruppe eine niedere Alkylgruppe darstellt, eine gegebenenfalls im Phenylring durch niederes Alkyl oder durch eine an 2 benachbarte Kohlenstoffatome gebundene niedere Alkylenkette substituierte Phenyl- oder Phenylniederalkylgruppe, insbesondere Phenyl, Benzyl oder Indanyl, darstellt, eine im Dioxolanring gegebenenfalls durch niederes Alkyl substituierte Dioxolanylmethylgruppe, insbesondere (2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl, darstellt, oder eine gegebenenfalls an der Oxymethylgruppe durch niederes Alkyl substituierte C_2 - C_6 -Alkanoyloxymethylgruppe darstellt.

5. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I nach einem der vorstehenden Ansprüche dadurch gekennzeichnet, daß R^2 eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe bedeutet und R^3 Wasserstoff ist.

6. Verwendung von Verbindungen gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß (3S,2'R)-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure oder deren physiologisch verträgliche Salze eingesetzt werden.

7. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch Arzneimittel, insbesondere durch Zytostatika, vorzugsweise durch zytostatisch wirksame Antibiotika, oder durch Chemikalien induzierten Schädigungen des Herzens, insbesondere des Myokards, in größeren Säugetieren und Menschen, dadurch gekennzeichnet, daß man eine in Bezug auf eine Herzschädigung vorbeugend oder schädigungsvermindernd wirksame Menge einer Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder von physiologisch verträglichen Salzen von Säuren der Formel I zusammen mit üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffen in eine geeignete Arzneiform überführt.

8. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur adjuvanten Behandlung bei größeren Säugetieren und Menschen in Therapien, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-zytotoxischen, insbesondere oxidativ-kardiotoxischen, Nebenwirkungen eingesetzt werden, dadurch gekennzeichnet, daß man eine zytoprotektiv, insbesondere kardioprotektiv wirksame Menge einer Verbindung der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 oder von physiologisch verträglichen Salzen von Säuren der Formel I zusammen mit üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffen in eine geeignete Arzneiform überführt.

9. Erzeugnisse enthaltend ein kardiotoxische oder ein oxidativ-zytotoxische oder oxidativ-kardiotoxische Nebenwirkungen aufweisendes Arzneimittel, insbesondere ein kardiotoxische Nebenwirkungen aufweisendes Zytostatikum, und eine Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder ein physiologisch verträgliches Salz von Säuren der Formel I als Kombinationspräparat zur gleichzeitigen, getrennten oder abgestuften Anwendung in einer Therapie mit dem kardiotoxische oder oxidativ-zytotoxische oder oxidativ-kardiotoxische Nebenwirkungen aufweisenden Arzneimittel.

10. Erzeugnisse nach Anspruch 9, enthalten als Zytostatikum ein zytostatisch wirksames Antibiotikum und eine Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1 oder ein physiologisch verträgliches Salz von Säuren der Formel I als Kombinationspräparat zur gleichzeitigen, getrennten oder abgestuften Anwendung in der zytostatischen Chemotherapie.

11. Erzeugnisse nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein zytostatisch wirksames Antibiotikum aus der Gruppe der Anthracycline, Mitoxantron oder ein Prodrug derselben enthalten.

12. Erzeugnisse nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Anthracyclin Daunorubicin, Doxorubicin (Adriamycin) oder Epirubicin oder ein Prodrug derselben, vorzugsweise Doxorubicin (Adriamycin) oder ein Prodrug davon, ist.

Solvay Pharmaceuticals GmbH
30173 Hannover

Arzneimittel mit protektiver Wirkung gegen oxidativ-toxische
und insbesondere gegen kardiotoxische
Substanzen

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Benzazepin-N-essigsäurederivaten, welche in α -Stellung zu dem Stickstoffatom eine Oxogruppe enthalten und in 3-Stellung durch einen 1-(Carboxyalkyl)-cyclopentyl-carbonyl-amino-Rest substituiert sind, und deren Salzen und biolabilen Estern insbesondere zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Schädigungen des Herzens in größeren Säugetieren und insbesondere Menschen, welche durch oxidativ-toxische, insbesondere kardiotoxische Dosen von Arzneimitteln oder Chemikalien verursacht werden, und zur Herstellung von für diese Prophylaxe und/oder Behandlung geeigneten Arzneimitteln. Die Erfindung betrifft hierbei allgemein auch die Verwendung der genannten Benzazepin-N-essigsäurederivate zur adjuvanten Behandlung im Rahmen von Therapien, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-toxischen, und insbesondere kardiotoxischen Nebenwirkungen eingesetzt werden. Bevorzugt betrifft die Erfindung die Prophylaxe und Behandlung von Schädigungen des Herzens, insbesondere des Myokards, welche im Rahmen einer zytostatischen Chemotherapie auftreten können.

Es ist bekannt, daß die in der Chemotherapie von malignen Tumoren verwendeten Zytostatika als unerwünschte Nebenwirkung kardiotoxische Eigenschaften aufweisen können. So werden im Rahmen der zytostatischen Therapie auch einige Antibiotika eingesetzt, die wegen ihrer allgemeinen toxischen

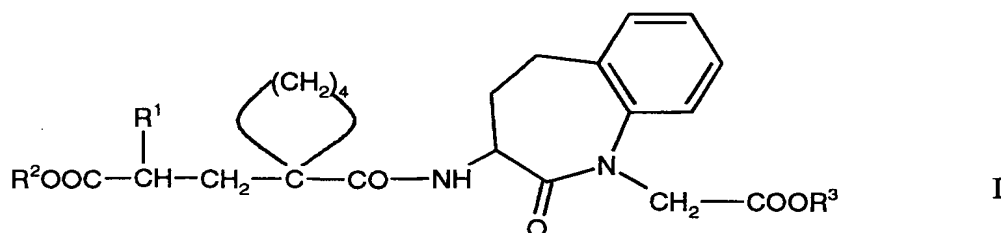
Eigenschaften nicht zur Behandlung bakterieller Infektionen eingesetzt werden können. Hierunter fallen beispielsweise die aus Streptomyces-Arten isolierten Anthracycline, die zu den wichtigen neueren Entwicklungen auf dem Gebiet der Zytostatika zählen. Die klinische Verwendbarkeit der Anthracycline ist jedoch durch ihre mehr oder weniger stark ausgeprägte Kardiotoxizität eingeschränkt. Die Kardiotoxizität ist hierbei mit der applizierten Gesamtdosis korreliert und häufig irreversibel. Vermutlich beruht die Herzschiädigung ebenso wie die zytostatischen Effekte dieser Antibiotika zumindest teilweise auf deren Membranwirkung, durch die über eine Bindung des Antibiotikums an Bestandteile der Zellmembran die Membranfluidität und -permeabilität erhöht wird. Ferner kann als weitere Ursache eine oxidative Schädigung mit in Betracht gezogen werden.

Typische, in der zytostatischen Therapie eingesetzte Antibiotika sind die Anthracycline Daunorubicin und dessen Prodrug Zorubicin, Doxorubicin (Adriamycin) und Epirubicin, sowie das synthetische Antibiotikum Mitoxantron.

Benzazepin-N-essigsäurederivate, welche in α -Stellung zu dem Stickstoffatom eine Oxogruppe enthalten und in 3-Stellung durch einen 1-(Carboxyalkyl)-cyclopentyl-carbonyl-amino-Rest substituiert sind, und deren Salzen und biolabilen Ester fallen unter den Schutzzumfang von in der deutschen Patentanmeldung DE 195 10 566 beschriebenen Benzazepin-, Benzoxazepin- und Benzothiazepin-N-essigsäurederivaten, welche in α -Stellung zu dem Stickstoff eine Oxogruppe enthalten und in 3-Stellung durch einen 1-(Carboxyalkyl)-cyclopentylcarbonyl-amino-Rest substituiert sind, und NEP-inhibitorische Wirkungen am Herzen besitzen. Die hier im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendeten Benzazepin-N-essigsäure-Verbindungen können nach den in der DE 195 10 566 beschriebenen Verfahren hergestellt werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue pharmazeutische Zubereitungen zur Prophylaxe und/oder Behandlung von am Herzen im Zusammenhang mit der Anwendung von kardiotoxischen Dosen von Arzneimitteln oder Chemikalien auftretenden Schädigungen zu entwickeln.

Erfindungsgemäß werden nun Verbindungen der allgemeinen Formel I



worin

- R¹ für eine Phenylniederalkylgruppe, welche gegebenenfalls im Phenylring durch niederes Alkyl, niederes Alkoxy oder Halogen substituiert sein kann, oder für eine Naphthyl-niederalkylgruppe steht,
- R² Wasserstoff oder eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe bedeutet und
- R³ Wasserstoff oder eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe bedeutet

und physiologisch verträgliche Salze der Säuren der Formel I verwendet zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch kardiotoxische Dosen von Arzneimitteln, insbesondere von Zytostatika, vorzugsweise von zytostatisch wirksamen Antibiotika, oder Chemikalien induzierten Schädigungen des Herzens, insbesondere des Myokards, in größeren Säugetieren und Menschen.

Ferner werden die Verbindungen der vorstehenden allgemeinen Formel I und von physiologisch verträglichen Salzen von Säuren der Formel I zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur adjuvanten Behandlung bei größeren Säuge-

tieren und Menschen in Therapien verwendet, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-zytotoxischen, insbesondere oxidativ-kardiotoxischen, Nebenwirkungen eingesetzt werden.

Sofern in den Verbindungen der Formel I die Substituenten niedere Alkyl- oder Alkoxygruppen bedeuten oder enthalten, können diese geradkettig oder verzweigt sein und insbesondere 1 bis 4, vorzugsweise 1 bis 2, Kohlenstoffatome enthalten und stellen bevorzugt Methyl oder Methoxy dar. Sofern die Substituenten Halogen enthalten, kommen insbesondere Fluor, Chlor oder Brom, vorzugsweise Fluor oder Chlor in Frage.

In dem Rest R^1 kann die Niederalkylenkette 1 bis 4, vorzugsweise 1 bis 2 Kohlenstoffatome enthalten. Insbesondere stellt R^1 eine gegebenenfalls substituierte Phenethylgruppe dar, welche gegebenenfalls ein- oder mehrfach durch Halogen, niederes Alkoxy oder niederes Alkyl substituiert sein kann, oder eine Naphthylethylgruppe.

Die Verbindungen der Formel I stellen gegebenenfalls veresterte Dicarbonsäurederivate dar. Je nach Applikationsform sind biolabile Monoester, insbesondere Verbindungen, worin R^2 eine einen biolabilen Ester bildende Gruppe und R^3 Wasserstoff bedeuten, oder Dicarbonsäuren bevorzugt, wobei letztere insbesondere für i.v.-Applikation geeignet sind.

Als biolabile Ester bildende Gruppen R^2 und R^3 eignen sich niedere Alkylgruppen, gegebenenfalls im Phenylring durch niederes Alkyl oder durch eine an zwei benachbarte Kohlenstoffatome gebundene niedere Alkylenkette substituierte Phenyl- oder Phenylniederalkylgruppen, im Dioxolanring gegebenenfalls durch niederes Alkyl substituierte Dioxolanylmethylgruppen oder gegebenenfalls an der Oxymethylgruppe durch niederes Alkyl substituierte C_2 - C_6 -Alkanoyloxymethylgruppen. Sofern die einen biolabilen Ester bildende Gruppe R^2 oder R^3 niederes Alkyl bedeutet, kann dieses eine bevorzugt unverzweigte Alkylgruppe mit 1 bis 4, vorzugsweise 2 Kohlenstoff-

atomen darstellen. Sofern die einen biolabilen Ester bildende Gruppe eine gegebenenfalls substituierte Phenylniederalkylgruppe darstellt, kann deren Alkylenkette 1 bis 3, vorzugsweise 1, Kohlenstoffatome enthalten. Sofern der Phenylring durch eine niedere Alkylenkette substituiert ist, kann diese 3 bis 4, insbesondere 3 Kohlenstoffatome enthalten. Als phenylhaltige Substituenten R^2 und/oder R^3 eignen sich insbesondere Phenyl, Benzyl oder Indanyl. Sofern R^2 und/oder R^3 eine gegebenenfalls substituierte Alkanoyloxymethylgruppe darstellen, kann deren Alkanoyloxygruppe 2 bis 6, vorzugsweise 3 bis 5, Kohlenstoffatome enthalten und ist vorzugsweise verzweigt und kann beispielsweise einen Pivaloyloxymethylrest (= tert.-Butylcarbonyloxymethylrest) darstellen.

Als physiologisch verträgliche Salze von Dicarbonsäuren oder Monoestern der Formel I kommen deren Alkalimetall-, Erdalkalimetall- oder Ammoniumsalze in Frage, beispielsweise Natrium- oder Kalziumsalze oder Salze mit physiologisch verträglichen, pharmakologisch neutralen organischen Aminen wie beispielsweise Diethylamin oder tert.-Butylamin.

Die Verbindungen der Formel I enthalten zwei chirale Kohlenstoffatome, nämlich das die Amidseitenkette tragende Kohlenstoffatom in 3-Stellung des Ringgerüsts und das den Rest R^1 tragende Kohlenstoffatom der Amidseitenkette. Die Verbindungen können somit in mehreren optisch aktiven Stereoisomeren Formen oder als Racemat vorliegen. Gemäß der vorliegenden Erfindung können sowohl die racemischen Gemische als auch die isomerenreinen Verbindungen der Formel I verwendet werden.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß die erfindungsgemäß verwendete Gruppe der Verbindungen der Formel I und deren physiologisch verträglichen Salze der Säuren außer ihren vorbekannten NEP-inhibitorischen Eigenschaften auch die Fähigkeit besitzen, Schädigungen des Herzens durch kardiotoxische Substanzen (Wirkstoffe, Chemikalien), insbesondere ab-

und umbauenden Prozessen (Remodelling) wie z.B. der myokardialen Hypertrophie und Fibrosierung, entgegenzuwirken und somit am Herzen eine Schutzwirkung gegenüber diesen kardiotoxischen Substanzen ausüben. Die Verbindungen der Formel I und deren physiologisch verträglichen Salze der Säuren besitzen somit in Bezug auf die Herzschädigung durch kardiotoxische Substanzen eine vorbeugende oder schädigungsvermindernde und somit anti-kardiotoxische Wirkung am Menschen und größeren Säugetieren. Die Verbindungen der Formel I, einschließlich deren Salze von Säuren und deren biolabile Ester, eignen sich daher zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch kardiotoxische Dosen von Arzneimitteln oder Chemikalien verschiedener Art induzierten Schädigungen des Herzens, insbesondere des Myokards. Die ursächlich für die Herzschädigung verantwortlichen Substanzen wie z.B. Arzneimittel können vielfältiger Art sein, z.B. die in der Chemotherapie von malignen Tumoren verwendete Zytostatika, insbesondere zytostatisch wirksame Antibiotika. Ferner wurde in diesem Zusammenhang gefunden, daß die erfindungsgemäß verwendete Gruppe von Verbindungen der Formel I ganz allgemein auch antioxidative Eigenschaften zeigen. Aus diesen Eigenschaften können vorteilhafte zytoprotektive und insbesondere kardioprotektive Wirkung resultieren, so daß sich die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen zur adjuvanten Behandlung bei größeren Säugetieren und Menschen in Therapien eignen, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-zytotoxischen und insbesondere mit oxidativ-kardiotoxischen Nebenwirkungen eingesetzt werden.

Die anti-kardiotoxische, also die gegen die durch kardiotoxische Substanzen bedingte Herzschädigung vorbeugend oder schädigungsvermindernd gerichtete, Wirkung sowie die antioxidative Wirkung der erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen der Formel I wurde in pharmakologischen Tests in vivo an Kaninchen und Ratten mit jeweils Adriamycin-induzierter Kardiomyopathie nachgewiesen. Der Nachweis erfolgte durch Messung der Substanzwirkung an Kaninchen in Bezug auf die Hemmung bzw. Verminderung von Adriamycin-induzierten Ab- und

Umbauprozessen (Remodelling) am Herzen, sowie durch Messung der Antioxidant-Aktivität der Verbindungen an Ratten.

Beschreibung der Testmethoden

A) Die Tests wurden an Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem Anfangskörpergewicht von $2,1 \pm 0,2$ kg durchgeführt. Die Tiere wurden in 3 Gruppen eingeteilt:

1. unhandelte Tiere (= Kontrolltiere, $n = 20$);
2. Adriamycin-behandelte Tiere (+ Placebo statt Testsubstanz, $n = 8$);
3. Adriamycin- und Testsubstanz behandelte Tiere ($n = 8$).

Als Testsubstanz wurde stellvertretend für die erfindungsgemäß verwendbaren Substanzen der Formel I die (3S,2R')-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure eingesetzt.

Die Gruppen 2 und 3 erhielten 4 Wochen lang zweimal pro Woche 1 mg/kg Adriamycin i.v. verabreicht. Die Gruppe 3 der Kaninchen mit Adriamycin-induzierter Kardiomyopathie erhielt eine tägliche orale Dosis der Testsubstanz (30 mg/kg Körpergewicht) über 4 Wochen, beginnend mit dem ersten Tag der Adriamycin-Behandlung, mit dem Futter verabreicht. Nach Ablauf der 4 Wochen wurden die Herzen isoliert und gewogen. Anschließend wurden sie Formalin-fixiert für spätere biochemische Untersuchungen (Hydroxyprolin-Gehalt des Herzgewebes gemessen mit der HPLC Aminosäuren Analyse nach Blankenship, D.T. et al., *Anal. Biochem.* **178**, 227 - 232, 1989 und Schuster, R., J. *Chromatogr.* **431**, 271 - 284, 1989). Sowohl der Anstieg des Herzgewichtes im Verhältnis zum Körpergewicht sowie des Hydroxyprolin-Gehaltes im Herzgewebe im Vergleich zu normalen Werten sind Indikatoren für am Herzen ablaufende Ab- und Umbauprozesse

(Remodelling). Die Testergebnisse sind der nachfolgenden Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I: Verminderung der durch Adriamycin bewirkten kardialen Umbauprozesse durch die Testsubstanz in Kaninchenherzen

Gemessene Parameter	Gruppe 1: Unbehandelte Tiere, n = 20 (X ± SEM)	Gruppe 2: Adriamycin- + Placebo behandelte Tiere, n = 8 (X ± SEM)	Gruppe 3: Adriamycin + Testsubstanz behandelte Tiere, n = 8 (X ± SEM)	% Effekt der Testsubstanz (Gruppe 3 vs. 2)
Verhältnis der Herzgewichte zum Körpergewicht (g)	2,01 ± 0,08	3,39 ± 0,13***	2,79 ± 0,08 ⁺	- 17,7
Hydroxyprolinegehalt des Herzens (µg/ng)	6,66 ± 0,45	10,68 ± 0,69***	9,26 ± 2,51	- 13,3

SEM = Standard Error of the Mean

*** p < 0,001 vs. unbehandelt (Gruppe 1)

+ p < 0,01 vs. Adriamycin + Placebo (Gruppe 2)

Bei dieser Testmethode führte die Behandlung mit der Testsubstanz zu einem statistisch signifikanten Abfall des Herz/Körpergewicht-Verhältnisses im Vergleich zu Adriamycin-behandelten Kontrolltieren. Durch Adriamycin-Behandlung (Gruppe 2) erhöhte sich das Herz/Körpergewicht-Verhältnis (gemessen in g/kg) bezogen auf die unbehandelte Kontrollgruppe (Gruppe 1) statistisch hochsignifikant um etwa 69 %. Wurde neben Adriamycin zusätzlich die Testsubstanz verabreicht (Gruppe 3), verminderte sich der Adriamycin-induzierte Anstieg des Herz/Körpergewicht-Verhältnisses statistisch signifikant um etwa 18 % im Vergleich zu Placebo-behandelten Tieren (Gruppe 2).

Die linksventrikuläre myokardiale Hydroxyprolin-Konzentration, die ein Maß für die kardiale Fibrosierung darstellt, war bei mit Testsubstanz behandelten Tieren (Gruppe 3) geringer als bei Adriamycin-behandelten Kontrolltieren (Gruppe 2). Durch Adriamycin-Behandlung erhöhte sich der myokardiale Hydroxyprolin-Gehalt (gemessen in $\mu\text{g}/\text{ng}$) des Herzens im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe (Gruppe 1) statistisch hochsignifikant um etwa 60 %. Wurde neben Adriamycin auch die Testsubstanz verabreicht (Gruppe 3), konnte der Adriamycin-induzierte Anstieg des Hydroxyprolin-Gehaltes um etwa 13 % im Vergleich zu Placebo-behandelten Tieren (Gruppe 2) vermindert werden. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, daß der Umbauprozess der extrazellulären myokardialen Matrix durch Verabreichung der Testsubstanz deutlich reduziert wird.

B) Die Tests wurden an männlichen Wistar Ratten mit einem Anfangskörpergewicht von 229 bis 277 g durchgeführt. Die Tiere wurden in 4 Gruppen eingeteilt:

1. unbehandelte Tiere (= Kontrolltiere, $n = 19$);
2. Adriamycin-behandelte Tiere (+ Placebo statt Testsubstanz, $n = 14$);
3. Testsubstanz-behandelte Tiere ($n = 11$);
4. Adriamycin- und Testsubstanz-behandelte Tiere ($n = 14$).

Als Testsubstanz wurde stellvertretend für die erfindungsgemäß verwendbaren Substanzen der Formel I die (3S,2R')-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure eingesetzt.

Die Tiere der Gruppen 2 und 4 erhielten 15 mg/kg Adriamycin intraperitoneal über einen Zeitraum von 2 Wochen. Beginnend mit dem ersten Tag der Adriamycin-Behandlung erhielten die Tiere der Gruppe 4 über 2 Wochen täglich 30 mg/kg der Testsubstanz mit dem Futter. Die Tiere der Grup-

pe 3 erhielten ebenfalls täglich 30 mg/kg der Testsubstanz mit dem Futter über 2 Wochen (jedoch ohne Adriamycin).

Nach Ablauf der 2-wöchigen Behandlung wurden die Tiere mit Pentobarbital (50 mg/kg i.p.) anästhesiert und venöse Blutproben entnommen, aus denen Plasma gewonnen wurde. Die Konzentration an Lipid-Peroxiden und die Ferroxidase-Aktivität im Plasma wurde gemessen nach den Methoden von Wong, S.H.Y. et al., Clin. Chem. 33, 214-220, 1987 bzw. Johnson, D.A. et al., Clin. Chem. 13, 142-150, 1967. Weiterhin wurde nach der Methode von Catignani, G.L. und Bieri, J.G., Clin. Chem. 29, 708-712, 1983 die α -Tocopherol-Konzentration im Plasma gemessen. Die Testergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II: Inhibition der pro-oxidativen Wirkung von Adriamycin durch die Testsubstanz in Ratten

Gemessene Plasmaparameter	Gruppe 1: Unbehandelte Tiere, n = 19 (X ± SEM)	Gruppe 2: Adriamycin + Placebo behandelte Tiere, n = 14 (X ± SEM)	Gruppe 3: Testsubstanz behandelte Tiere, n = 11 (X ± SEM)	Gruppe 4: Adriamycin + Test- substanz behan- delte Tiere, n = 14 (X ± SEM)	% Effekt der Testsubstanz	
					Gruppe 4 vs. 2	Gruppe 3 vs. 1
α-Tocopherol (Vitamin E) (µg/dl)	337,0 ± 21,0	338,2 ± 28,0	657,8 ± 21,0***	407,9 ± 33,0	+ 20,6	+ 95,2
Lipidperoxide (gemessen als Malondialdehyd- thiobarbitursäure- Addukte) (µmol/l)	1,939 ± 0,085	4,476 ± 0,404***	2,319 ± 0,086*	3,030 ± 0,235+++	- 32,3	+ 19,6
Ferroxidase-Aktivität (IU/l)	0,2698 ± 0,0107	0,3289 ± 0,317*	0,2545 ± 0,0104	0,2534 ± 0,0128+	- 23,0	- 5,7

SEM = Standard Error of the Mean

* p < 0,05 vs. unbehandelt (Gruppe 1)

*** p < 0,001 vs. unbehandelt (Gruppe 1)

+ p < 0,05 vs. Adriamycin + Placebo (Gruppe 2)

+++ p < 0,001 vs. Adriamycin + Placebo (Gruppe 2)

Die Testsubstanz zeigte direkt antioxidative Effekte (z.B. Erhöhung von Plasma α -Tocopherol im Vergleich zu Kontrolltieren und Adriamycin-behandelten Tieren) und inhibierte die pro-oxidative Wirkung von Adriamycin, was sich durch signifikante Reduktion der Lipidoxidation und Plasma-Ferroxidase-Aktivität im Vergleich zu Adriamycin-behandelten Vergleichsratten zeigte. Durch Verabreichung der Testsubstanz erhöhte sich der α -Tocopherol-Gehalt (Vitamin E, gemessen in $\mu\text{g/dl}$) im Plasma der Versuchstiere in Gruppe 3 im Vergleich zu den Kontrolltieren (Gruppe 1) statistisch hochsignifikant um etwa 95 %. Bei den Adriamycin- und Testsubstanz-behandelten Tieren (Gruppe 4) wurde im Vergleich zu den Tieren der Gruppe 2 (Adriamycin + Placebo) ebenfalls ein deutlicher Anstieg des α -Tocopherol-Gehaltes im Plasma um etwa 21 % festgestellt. Die Konzentration an Lipidperoxiden im Rattenplasma (gemessen als Malondialdehyd-Thiobarbitursäure-Addukte) stieg bei Adriamycin-behandelten Tieren der Gruppe 2 statistisch hochsignifikant um etwa 131 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1). Wurde neben Adriamycin zusätzlich die Testsubstanz verabreicht (Gruppe 4) konnte der Adriamycin-induzierte Anstieg der Plasmakonzentration an Lipidperoxiden statistisch hochsignifikant um etwa 32 % im Vergleich zur Gruppe 2 (Adriamycin + Placebo) vermindert werden. Die Gesamtaktivität der Ferroxidase (gemessen in IU/l) im Rattenplasma stieg in der Adriamycin-behandelten Gruppe (Gruppe 2) statistisch signifikant um etwa 22 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 1). Wurde neben Adriamycin zusätzlich die Testsubstanz verabreicht (Gruppe 4) ging die Ferroxidase-Aktivität statistisch signifikant um 23 % im Vergleich zur Gruppe 2 (Adriamycin + Placebo) zurück, und entsprach damit in etwa der Ferroxidase-Aktivität, die für die Kontrollgruppe (Gruppe 1) ermittelt worden war.

Aus diesen Testergebnissen kann geschlossen werden, daß die pro-oxidative Wirkung von Adriamycin bei der durch diese

Substanz bewirkten Kardiotoxizität eine Rolle spielt, und daß die Testsubstanz diese Kardiotoxizität durch ihre anti-oxidativen Eigenschaften positiv beeinflusst.

Aufgrund ihrer vorstehend beschriebenen Wirkung sind die Verbindungen der Formel I geeignet als Arzneimittel für größere Säugetiere und insbesondere Menschen zur Prophylaxe und/oder Behandlung von durch schädigende Einflüsse von kardiotoxischen Dosen von Arzneimitteln und anderen chemischen Substanzen bedingten Schädigungszuständen am Herzen, z.B. insbesondere Ab- und Umbauprozesse (Remodelling) am Herzen wie myokardiale Hypertrophie oder Fibrosierung. Die Verbindungen der allgemeinen Formel I zeigen dabei auch eine vorteilhafte antioxidative Wirkung. Dadurch können schädigende oxidative Einflüsse von anderen Arzneimitteln, wie z.B. von Zytostatika vermindert werden. Die Verbindungen der Formel I können somit als Arzneimittel zur adjuvanten Behandlung in solchen Therapien eingesetzt werden, bei denen Arzneimittel mit oxidativ-toxischen, insbesondere kardiotoxischen Nebenwirkungen verabreicht werden. Hierbei werden Dicarbonsäuren der Formel I und deren Salze zweckmäßig in parenteral, insbesondere i.v., applizierbaren Arzneiformen und Mono- oder Diester der Formel I zweckmäßig in oral applizierbaren Arzneiformen eingesetzt. Die zu verwendenden Dosen können individuell verschieden sein und variieren naturgemäß je nach Art des zu behandelnden Zustandes, der verwendeten Substanz und der Applikationsform. Zum Beispiel werden parenterale Formulierungen im allgemeinen weniger Wirkstoff enthalten als orale Präparate. Im allgemeinen eignen sich jedoch für Applikationen an größeren Säugetieren, insbesondere Menschen, Arzneiformen mit einem Wirkstoffgehalt von 1 bis 200 mg pro Einzeldosis.

Als Heilmittel können die Verbindungen der Formel I mit üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffen in galenischen Zubereitungen wie z.B. Tabletten, Kapseln, Suppositorien oder Lösungen enthalten sein. Diese galenischen Zubereitungen können

nach an sich bekannten Methoden hergestellt werden, unter Verwendung üblicher fester oder flüssiger Trägerstoffe wie z.B. Milchzucker, Stärke oder Talkum oder flüssigen Paraffinen und/oder unter Verwendung von üblichen pharmazeutischen Hilfsstoffen, beispielsweise Tablettensprengmitteln, Lösungsvermittlern oder Konservierungsmitteln.

Die Erfindung betrifft auch Erzeugnisse, die ein kardiotoxische Nebenwirkungen oder ein oxidativ-zytotoxische oder oxidativ-kardiotoxische Nebenwirkungen aufweisendes Arzneimittel, insbesondere ein kardiotoxische Nebenwirkungen aufweisendes Zytostatikum, und eine Verbindung der oben beschriebenen Formel I oder ein physiologisch verträgliches Salz von Säuren der Formel I als Kombinationspräparat zur gleichzeitigen, getrennten oder abgestuften Anwendung in einer Therapie mit dem kardiotoxische Nebenwirkungen aufweisenden Arzneimittel enthalten. Insbesondere enthalten diese Erzeugnisse als Zytostatikum ein zytostatisch wirksames Antibiotikum und eine Verbindung der Formel I oder ein physiologisch verträgliches Salz von Säuren der Formel I als Kombinationspräparat zur gleichzeitigen, getrennten oder abgestuften Anwendung in der zytostatischen Chemotherapie. Solche Erzeugnisse können beispielsweise als Antibiotikum ein zytostatisch wirksames Antibiotikum aus der Gruppe der Anthracycline, Mitoxantron oder ein Prodrug derselben enthalten. Hierbei kann das Anthracyclin insbesondere Daunorubicin, Doxorubicin (Adriamycin) oder Epirubicin oder ein Prodrug derselben, vorzugsweise Doxorubicin (Adriamycin) oder ein Prodrug davon, sein.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern, jedoch deren Umfang in keiner Weise beschränken.

Die nachfolgenden Beispiele 1 und 2 beschreiben erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitungen enthaltend einen Wirkstoff der Formel I sowie die Herstellung solcher pharmazeutischer Zubereitungen. Die erfindungsgemäß verwendeten

Verbindungen der Formel I können hierfür nach den in der vor-
genannten deutschen Patentanmeldung DE 195 10 566 beschriebe-
nen Methoden hergestellt werden.

Beispiel 1:

(3S,2'R)-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure enthaltende Tabletten

Man stellte Tabletten in folgender Zusammensetzung pro Ta-
blette her:

(3S,2'R)-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure	20 mg
Maisstärke	60 mg
Milchzucker	135 mg
Gelatine (als 10%ige Lösung)	6 mg

Der Wirkstoff, die Maisstärke und der Milchzucker wurden mit der 10%igen Gelatine-Lösung eingedickt. Die Paste wurde zerkleinert, und das entstehende Granulat wurde auf ein geeignetes Blech gebracht und bei 45 °C getrocknet. Das getrocknete Granulat wurde durch eine Zerkleinerungsmaschine geleitet und in einem Mixer mit weiteren folgenden Hilfsstoffen vermischt:

Talkum	5 mg
Magnesiumstearat	5 mg
Maisstärke	9 mg

und sodann zu Tabletten von 240 mg verpreßt.

Beispiel 2:

(3S,2'R)-3-[1-(2'-Carboxy-4'-phenyl-butyl)-cyclopentan-1-carbonylamino]-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure enthaltende Injektionslösung.

Man stellte eine Injektionslösung mit folgender Zusammensetzung pro 5 ml her:

(3S,2'R)-3-[1-(2'-Carboxy-4'-phenyl-butyl)-cyclopentan-1-carbonylamino]-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure	10 mg
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	43,24 mg
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	7,72 mg
NaCl	30,0 mg
gereinigtes Wasser	4948,0 mg

Die Feststoffe wurden in Wasser gelöst, die Lösung wurde sterilisiert und in Portionen von jeweils 5 ml in Ampullen abgefüllt.

Beispiel 3:

Bevorzugte Verbindungen der Formel I für die erfindungsgemäße Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Schädigungen des Herzens, welche durch oxidativ-toxische und insbesondere kardiotoxische Dosen von Arzneimitteln verursacht werden, insbesondere zur adjuvanten Behandlung im Rahmen von Therapien mit derartigen Arzneimitteln, wie z.B. im Rahmen einer zytostatischen Chemotherapie, sind z.B. (einschließlich der Salze von Säuren):

3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure-tert.-butylester.

3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure.

(3S,2'R)-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure-tert.-butylester.

(3S,2'R)-3-{1-[2'-(Ethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure.

3-{1-[2'-(tert.-Butoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure-tert.butylester.

3-[1-(2'-Carboxy-4'-phenyl-butyl)-cyclopentan-1-carbonylamino]-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure.

3-{1-[2'-(tert.-Butoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure-benzylester.

3-[1-(2'-Carboxy-4'-phenyl-butyl)-cyclopentan-1-carbonylamino]-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure-benzylester.

3-{1-[2'-(tert.-Butylcarbonyloxymethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure-benzylester.

3-{1-[2'-(Pivaloyloxymethoxycarbonyl)-4'-phenyl-butyl]-cyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1H-1-benzazepin-1-essigsäure.